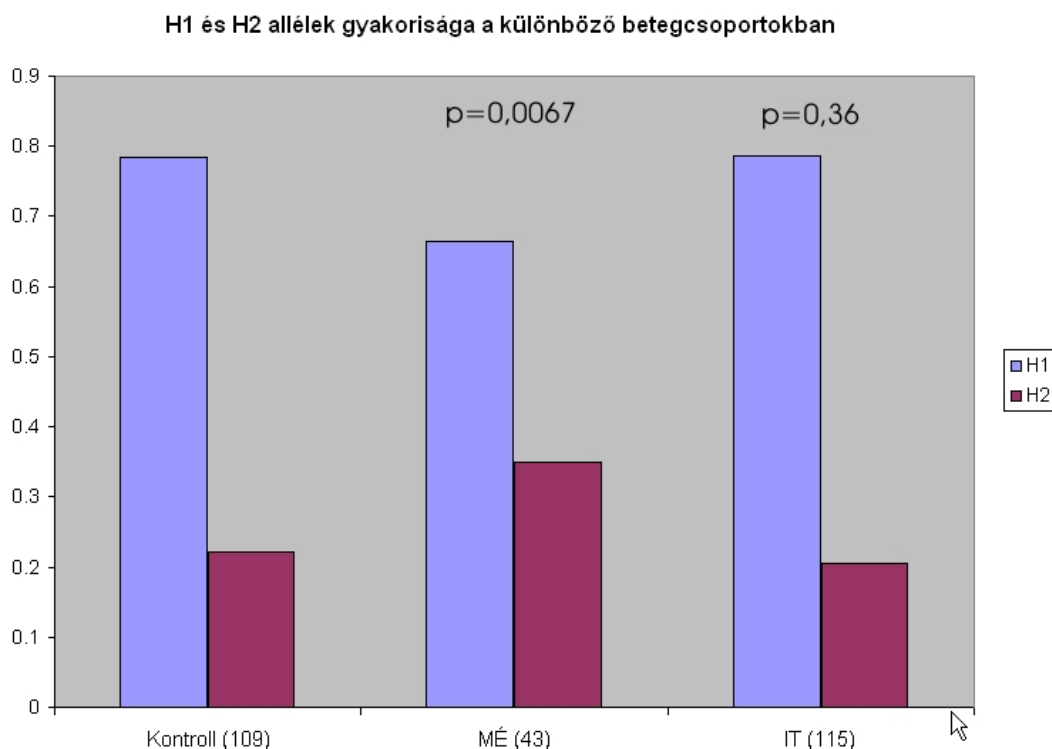


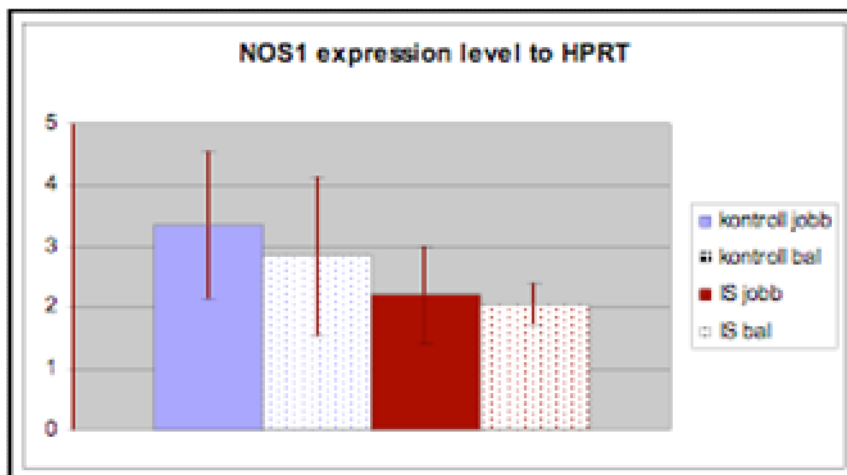
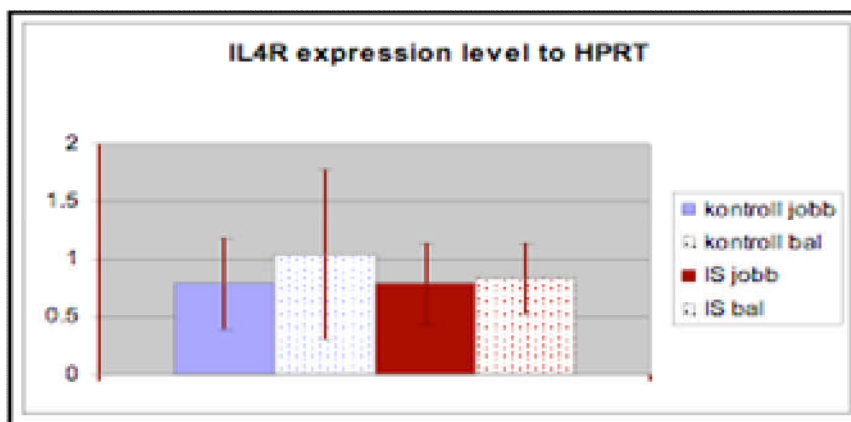
Az idiopathiás scoliosis (IS) etiológiájának genetikai komponensét két megközelítéssel vizsgáltuk.

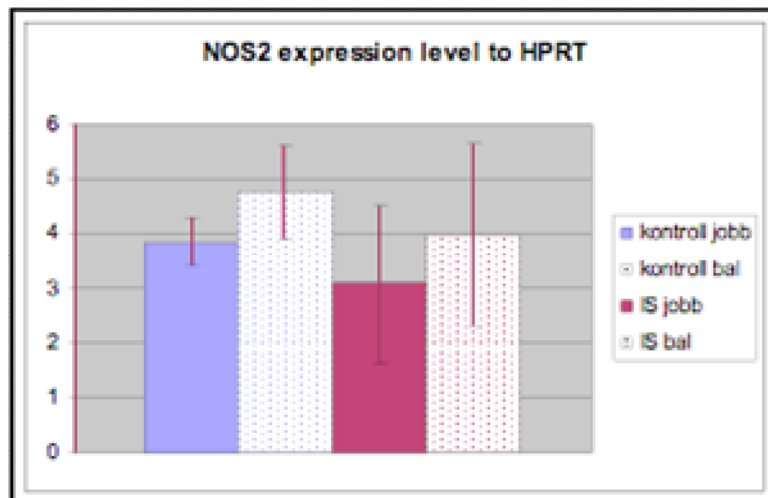
Az első egy genomikus polimorfizmus, amely RFLP analízis során került felszínre és a későbbi vizsgálatok a 17 kr. q21.32 régiójában lévő kromoszómapolimorfizmusra utaltak. Ez egy 900 kb-nyi inverzió, ami egy 4.5 kb-nyi genomikus delécióval kapcsoltan helyezkedik el. A deléciót "long range" PCR analízissel tudtuk kimutatni. Az első vizsgálatok a 43 fő IS-es beteg és ugyanennyi kontroll esetében az IS-hez asszociálnak jelezte az egyik allélt, nevezetesen az ebben a régióban található 3 gén (MAPT, NSF, CRHR1) közül a MAPT gén H2 allélját. A statisztikai értékelése Fisher teszttel történt és szignifikánsnak jelezte a kapcsoltságot:  $p=0.0067$ . További 115 IS-es betegből készítettünk DNS adatbankot és vizsgáltuk meg a MAPT H2 alléljának előfordulási gyakoriságát, azonban ebben a betegcsoportban az asszociációt nem sikerült igazolni.



A második megközelítés a kontroll és az IS-es betegek jobb és a bal oldali paravertebrális izmainak génexpressziós analízise volt. Az SZBK Genomikai munkacsoportjával közösen két microarray vizsgálat készült. Az elsőben 6-6 korban, nemben és a scoliosisos görbülete fokában közel megegyező egyed RNS mintáit kevertük össze. Ez a ún. "pool", kialakítás arra szolgál, hogy az egyedi különbségeket elfedjük és a közös, vizsgálni kívánt jelenséghez kapcsolható változás hangsúlyozottabban jelenhessen meg. Az oligokat tartalmazó mikrochip közel 20000, részben annotált cDNS-t., illetve EST-t reprezentált. Nagy számú, közel 200 gén mutatott expresszióbeli eltérést a jobb és a bal oldali izombiopsziák vonatkozásában. A génexpressziós eltérés igazolására az irodalmi adatok alapján 12 gént választottunk ki és vizsgáltuk tovább a kvantitatív real-time PCR

(QPCR) technikával (Corbett Research). Ezek a gének a BMP4, IL4R, NTF3, Coll13A1, Jak1, FPRL1, LMNA, VDR, Col15A1, illetve a Nos1, Nos2, Nos3, az utóbbiak vizsgálatát a közelmúltban megjelent közlemény indokolta, de a microchipen nem adtak eredményt. Három gén esetében (IL4R, Nos1 és Nos2) mutatkozott eltérés a QPCR során, ahol a vizsgált minták 4-6 egyed RNS-einek elegye volt. Természetesen a "pool,-ok vizsgálata után szükséges a nagyobb számú egyedi minták analízise és statisztikai értékelése. Ezeket a QPCR reakciókat azzal a fentebb említett három génnel végeztük el, ahol mRNS mennyiségi különbségeket tudtunk kimutatni (IL4R, Nos1 és Nos2). Mindhárom esetben azt kaptuk, hogy az egyedek közötti szórás nagyon nagy és így szignifikáns eltérés a kontroll és IS-es betegek génkifejeződésében nem található ezen gének esetén sem. (Ld. mellékelt ábrák).





A második microarray analízis során már 10-10 fő RNS mintáit kevertük össze, két-két párhuzamos jobb, illetve bal oldali mintát hozva létre, ezekkel a biológiai és a technikai párhuzamosokkal lehetőségünk nyílt statisztikai értékelést végezni. A továbbiakban azoknak a géneknek az annotálását és irodalmi áttekintését végeztük el, amelyek szignifikánsan eltérő expressziót mutattak a jobb és bal oldali vonatkozásában az IS betegekben. A kísérlet során 22 gén mutatott erősebb jobb oldali expressziót és 41 pedig erősebb bal oldalt. Mivel a microarray hibridizálása során nem volt lehetőségünk egészséges emberek RNS mintáinak felhasználására különösen fontos, hogy az eredmények igazolásánál, a QPCR során vizsgáljuk azokat is. Három gént választottunk ki validálásra (Hox7, CDK5, LEP), ezek közül a leptint (LEP) egyedi mintákon is vizsgáltuk és igazolni tudtuk az expresszióbeli különbséget a két oldal között két IS-es beteg mintáján. Sajnos a megvizsgált két kontroll mintában ellenkező irányú eltérést detektáltunk, aminek nem tudjuk még a magyarázatát.

Nagyon kevés számú megfelelő kontroll minta áll a rendelkezésünkre, mivel csak baleseti sérülés nyomán végzett korrigáló műtét esetén lehetséges mintákat gyűjteni a paravertebrális izmokból. Ez a tény nehezíti az eredmények elfogadtatását.

Az IS vizsgálata során számos ismert etiológiájú igen ritka scoliosist is sikerült vizsgálnunk (Townes-Brocks szindróma, Frontometaphysealis dysplasia). A betegségek genetikai hátterének vizsgálatával, a kialakulásért felelős gének meghatározásával reméltük szűkíteni az IS kialakulásában szerepet játszó gének mennyiségét.

A Nature Genetics 2004 áprilisában közzétett egy megfigyelést miszerint a filamin A és filamin B gének mutációja kimutatható különféle human sceletális problémákban. Ezen belül filamin B mutációk három csontdeformitással társuló, egymástól részben elkülönült entitások hátterében, köztük csigolyafejlődési rendellenességek hátterében állhatnak. A filamin B gén exonjaira tervezett primerekkel direkt szekvenálás segítségével próbáltunk mutációkat keresni a klinikánk deformitással kezelt beteganyagából kiválasztott beteganyagából 34 olyan betegben és családtagjaiban, akiknek a klinikai megjelenés alapján nagy valószínűséggel feltételezni lehetett az eltérést a fenti génben.

Számos már ismert és eddig nem ismert SNP-t találtunk; egy esetben találtunk olyan eltérést, ami egyik szülőben sem volt megtalálható, és a betegeben egy ala-val cserével társul. Előzetes eredményeinket kongresszuson közöltük, további közlések nemzetközi kapcsolat keretében még várhatók.